

NCI-N87-Luc šūnas | 305695

Vispārīga informācija

Description

NCI-N87-Luc ir cilvēka NCI-N87 kuņģa adenokarcinomas šūnu līnijas bioluminiscentis atvasinājums, kas ģenētiski modificēts, lai stabili ekspresētu ugunskurku luciferāzes reportergēnu. Sākotnējā NCI-N87 šūnu līnija tika izveidota no kuņģa tubulārās adenokarcinomas aknu metastāzes vīrieša pacientam ar Āfrikas izcelsmi, un to raksturo HER2 (ERBB2) gēna amplifikācija un proteīna pārmērīga ekspresija, padarot to par vienu no galvenajiem pirmsklīniskajiem modeļiem HER2-positīvam kuņģa vēzim. NCI-N87 šūnas uzrāda epitēlija morfoloģiju un tiek plaši izmantotas, lai novērtētu HER2 mērķterapiju, tostarp trastuzumaba, pertuzumaba un trastuzumaba-emtansīna (T-DM1), efektivitāti.

Stabila luciferāzes integrācija NCI-N87-Luc šūnās ļauj veikt jutīgu, neinvazīvu biolumiscences attēlveidošanu (BLI), lai novērtētu audzēja apjomu subkutānos un ortotopiskos ksenotransplantātu modeļos imūnsistēmas vājinātiem saņēmējiem. Luminiscences signāls korelē ar dzīvotspējīgo audzēja šūnu skaitu, kas ļauj ilgtermiņā novērot audzēja iesaņķošanas, augšanas kinētiku un reakciju uz HER2 mērķtiecīgiem vai ķīmijterapijas līdzekļiem. NCI-N87-Luc ir īpaši vērtīgs antivielu-zāļu konjugātu (ADC), bispecifisko antivielu un jauno HER2 mērķtiecīgo stratēģiju pirmsklīniskai novērtēšanai kuņģa vēža gadījumā, kā arī zāļu skrīninga lietojumiem ar augstu caurlaidspēju.

NCI-N87-Luc saglabā HER2 amplificēto molekulāro fenotipu un adhezīvās augšanas īpašības, kas raksturīgas vecāku NCI-N87 līnijai. Luciferāzes reportera gēns uzlabo eksperimentālo caurlaidspēju un jutību in vivo attēlveidošanas pētījumos. Pirms izmantošanas kvantitatīvos attēlveidošanas vai farmakoloģiskajos pētījumos pētniekiem ir jāpārbauda luciferāzes aktivitāte, HER2 ekspresijas stāvoklis un augšanas kinētika savos konkrētajos eksperimentālajos apstākļos.

Organism

Cilvēks

Tissue

Kuņģis

Disease

Kuņģa kanāliņu adenokarcinoma

Metastatic site

Aknas

Synonyms

NCI-N87, NCI N87, N-87, NCI-H87, H87, H-87, NCIN87

Raksturojums

Age

Vecums nav precizēts

Gender

Vīrieši

Ethnicity

Āfrikas

Morphology

Epitēlija

NCI-N87-Luc šūnas | 305695

Growth properties	Adherent
--------------------------	----------

Normatīvie dati

Citation	NCI-N87-Luc (Cytion kataloga numurs 305695)
-----------------	---

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_1603
-----------------------------	-----------

GMO Status	GMO-S1: Šī šūnu līnija satur stabili integrētu ugunskrēsliņa luciferāzes reporterķēžu (Luc2, kodonu optimizēta), kas ievadīta, izmantojot replikācijas nespējīgu lentivīrusa transdukciju. Iegūtā poliklonālā šūnu populācija tika uzturēta puromicīna selekcijas apstākļos (1–5 µg/ml). Ir nepieciešama S1 drošības klase. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un citās valstīs var atšķirties.
-------------------	--

Biomolekulārie dati

Antigen expression	Luc2 (spožā muša, kodonu optimizēts)
---------------------------	--------------------------------------

Tumorigenic	Jā
--------------------	----

Darbs ar

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)
-----------------------	--

Supplements	Papildiniet barotni ar 10 % FBS, 10 mM HEPES, 2,5 g/l glikozes un 1 mM nātrija piruvātu
--------------------	---

Dissociation Reagent	Accutase 10 minūtes 37 °C temperatūrā
-----------------------------	---------------------------------------

Subculturing	Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.
---------------------	---

NCI-N87-Luc šūnas | 305695

Split ratio no 1 līdz 3

Seeding density 2 līdz 4×10^4 šūnas/cm²

Fluid renewal 2 līdz 3 reizes nedēļā

Freeze medium Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni + 10% DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas.

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Maisījumu centrifugē pie 200 x g 5 minūtes, virsgatavumu, kas satur sasaldēšanas barotni, uzmanīgi izmet.
7. Veikt procedūru, kas aprakstīta sadaļā "Atjaunošana pēc atkausēšanas"

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, mitrināta atmosfēra.

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

NCI-N87-Luc šūnas | 305695

**Storage
Conditions**

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze